

PEMBUATAN DAN UJI AKTIVITAS SEDIAAN GEL SCARLESS WOUND DENGAN EKSTRAK BINAHONG DAN ZAT AKTIF IBUPROFEN

Prita Patricia^{*}, Sri Hartati Yuliani

Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

Abstract: Wound is a condition where the tissue was damaged. The body will repair this damage by wound healing mechanism which often leads to the formation of scar. The scar is caused by the inflammation phase of wound healing mechanism. Ibuprofen is one of the antiinflammatory agent that can inhibit or shorten the inflammatory phase by inhibit cyclooxygenase enzyme in prostaglandin synthesise. Prostaglandin has an important role on the formation of inflammatory phase. Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) has a potential activity as a wound healing agent. Binahong contains ascorbic acid which is important for the activation of prolyl-hydroxygenase enzyme that support hydroxylation phase in the process of collagen formation, so that the wound healing process can be accelerated. In this research, a gel preparation with binahong extract was combined with ibuprofen to form a scarless wound gel. This research was purely experimental. The test method used is a histopathological test which continued with a calculation of collagen area and a physical properties test. The collagen area calculation data were analyzed by independent sample t-test with 95% confidence interval. In this research, the addition of ibuprofen was expected to reduce the scar formation on incisional wound of white Swiss Webster mice. The result showed that the gel preparation with binahong extract and ibuprofen formed statistically less scar when compared to the gel preparation with binahong extract only.

Keywords: wound, ibuprofen, binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.), scar.

1. Pendahuluan

Luka mengakibatkan terjadinya kerusakan pada banyak lapisan, seperti lapisan epidermis, membran basal, dan lapisan dermis (Shaw dan Martin, 2009). Parut luka atau jaringan parut timbul akibat adanya proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka terdiri atas tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase pembentukan jaringan atau proliferasi, dan fase pematangan jaringan (Shai dan Maibach, 2005).

Pada akhir fase inflamasi akan terbentuk jaringan parut. Pengurangan masa fase inflamasi akan memberikan dampak penurunan aktivitas pembentukan jaringan parut tanpa mengganggu proses epitelisasi ulang. Zat-zat antiinflamasi dapat digunakan untuk meningkatkan hasil proses penyembuhan luka dengan membatasi terjadinya pembentukan jaringan parut (Wilgus, Vodovotz, Vittadini, Clubbs, dan Oberyshyn, 2003).

Ibuprofen merupakan salah satu zat antiinflamasi. Ibuprofen merupakan turunan dari asam propionat yang berperan sebagai inhibitor non-selektif terhadap siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Ibuprofen akan menghambat mekanisme aksi dari siklooksigenase pada sintesis prostaglandin. Prostaglandin memiliki peran sebagai enzim yang penting pada pembentukan fase inflamasi (Aslam dan Bushra, 2010).

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) adalah tanaman obat yang dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi dan terbukti secara empiris mampu mempercepat proses penyembuhan luka (Sumartiningsih, 2011). Yuliani (2012) dalam penelitiannya telah menemukan konsentrasi optimum ekstrak etanol daun binahong dalam sediaan hidrogel penyembuh luka. Menurut Ariani, Loho, dan Durry (2013), kandungan flavonoid dan asam askorbat pada daun

^{*}Email korespondensi: prita_patricia@yahoo.co.id

binahong memiliki aktivitas pembentukan kolagen dan mempercepat epitelisasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kombinasi ekstrak binahong dan ibuprofen sebagai sediaan gel penyembuh luka dapat memberikan efek pengurangan parut luka.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni. Penelitian ini akan mengukur daya pengurangan pembentukan parut luka dengan parameter luas kolagen baru. Subyek dalam penelitian ini adalah 6 ekor mencit putih (*Mus musculus*) galur Swiss-Webster yang diperoleh dari Laboratorium Imono Universitas Sanata Dharma, berusia 2-3 bulan dengan deviasi berat badan dikontrol pada rentang 25-28 g (3 g). Simplisia daun binahong diperoleh dari Laboratorium Kebun Obat Universitas Sanata Dharma, yang daunnya dipanen pada bulan Desember 2014.

Bahan penelitian lainnya adalah etanol 96%, etanol 70%, ibuprofen (PT. Sanbe Farma), Bioplacenton®, kalium sorbat, carbopol, CMC-Na, Ca-alginat, gliserol, TEA, akuades, *Nutrien Agar* (*Oxoid*), kloroform teknis, ketamin, krim depilatori, dan formalin 10%.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hotplate magnetic stirrer*, *stirrer*, termometer, corong Buchner, pompa vakum, kertas saring, plat *stainless steel*, sel elektrolisis, sentrifugator, aluminium foil, kabinet LAF, ose, tabung sentrifugasi, mortir dan stamper, spuit

injeksi, pinset, gunting, skalpel, *blade*, jarum bedah, benang operasi, pisau mikrotom dan pengasahnya, *object glass*, kaca bundar, *plastic wrap*, mikroskop cahaya, dan alat-alat gelas lainnya.

2.1. Pengumpulan, pengeringan, dan ekstraksi daun binahong

Daun binahong dipisahkan dari batang dan akarnya, kemudian dikeringkan. Simplisia yang telah disortasi kering kemudian diserbukkan dan ditimbang sebanyak 200 g. Simplisia diekstraksi dalam 1000 mL etanol 96% selama 90 menit di atas *hotplate magnetic stirrer* dengan bantuan *stirrer*. Suhu dikontrol pada 60°C. Ekstrak disaring dengan corong Buchner, dan ditambahkan 50 mL akuades ke dalam filtrat. Ekstrak kemudian dielektrolisis hingga tersisa 250 mL. Hasil elektrolisis disaring dengan corong Buchner dan disentrifugasi.

2.2. Pembuatan gel scarless wound

Basis formula yang digunakan mengacu pada penelitian Yuliani (2012) yang memformulasikan ekstrak binahong dalam sediaan gel penyembuh luka. Formula yang akan digunakan ditampilkan pada Tabel I.

Kalium sorbat dan asam borat masing-masing sebanyak 200 mg dan 500 mg dimasukkan ke dalam 10 mL air. Kemudian 25 g larutan carbopol 4% ditambahkan ke dalamnya, diaduk hingga homogen. Selanjutnya 20 g larutan CMC-Na 3%

Tabel I. Formula Sediaan Uji *Scarless Wound*

Formula	Gel	Gel Binahong	Gel Ibuprofen	Gel Binahong Ibuprofen
Carbopol	1	1	1	1
CMC-Na	0,5	0,5	0,5	0,5
Ca-alginat	0,5	0,5	0,5	0,5
Trietanolamin	sampai pH 7	sampai pH 7	sampai pH 7	sampai pH 7
Gliserol	12,5	12,5	12,5	12,5
Asam borat	0,5	0,5	0,5	0,5
Kalium sorbat	0,2	0,2	0,2	0,2
Etanol	10	5	5	-
Akuades	ad 90	ad 90	ad 90	ad 90
Ekstrak binahong	-	5%	-	5%
Ibuprofen	-	-	5%	5%

yang telah dicampur dengan Ca-alginat, ditambahkan ke dalam campuran sebelumnya, diaduk hingga homogen. Gliserol sejumlah 12,5 g dimasukkan, diaduk hingga homogen. Dilanjutkan dengan penambahan 32 mL akuades, diaduk hingga homogen. TEA ad pH 7. Basis tersebut kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Ibuprofen dan ekstrak binahong masing-masing sebanyak 5% dari bobot sediaan yang diperlukan ditambahkan ke dalam sediaan, dilakukan dalam kabinet LAF.

2.3. Uji sterilitas

Kabinet LAF dibersihkan menggunakan alkohol 70% dan didiamkan di bawah sinar UV selama 24 jam sebelum digunakan. Media agar dibuat dengan memanaskan 21 g *Nutrien Agar* (NA) dalam 750 mL akuades, di atas *hotplate magnetic stirrer*. Media NA kemudian dituang ke dalam tabung-tabung reaksi untuk disterilisasi dalam autoklaf (121°C, 1 atm, 15 menit). Selanjutnya media NA dituang ke cawan petri dan dibiarkan memadat. Sediaan yang telah selesai dibuat kemudian di-*streak* dengan ose pada media agar secara zigzag. Masing-masing petri kemudian dibungkus dengan *plastic wrap* dan diinkubasi terbalik selama 24 jam.

2.4. Uji daya sebar

Sediaan sebanyak 0,5 g ditimbang dan diletakkan di tengah kaca bundar. Kaca bundar lainnya diletakkan (yang telah ditimbang bersama dengan pemberat, sehingga total bobotnya 125 g) di atas kaca bundar pertama dan diamkan selama 1 menit. Diameter sediaan yang telah menyebar diukur (dengan mengambil nilai rata-rata setelah diukur dari empat arah berbeda, vertikal, horisontal, dan kedua diagonalnya) dan diulangi sebanyak tiga kali.

2.5. Uji homogenitas

Sediaan secukupnya diletakkan pada *object glass* lalu letakkan *object glass* yang lain di atas *object glass* pertama, tekan hingga keduanya merapat. Homogenitas sebarannya diamati. Ulangi sebanyak tiga kali.

2.6. Uji sifat alir

Uji sifat alir dilakukan menggunakan instrumen *Rheosys Merlyn II* dengan metode *cup and bob*.

2.7. Perlakuan pemberian luka pada mencit

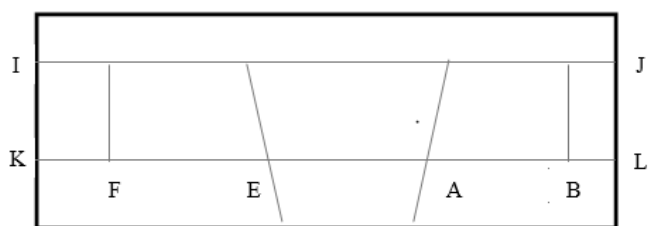
Enam ekor mencit ditimbang dengan deviasi berat badan kurang dari 3 g. Mencit-mencit tersebut kemudian diberi olesan krim depilatori pada bagian punggungnya dan didiamkan selama 5 menit. Krim tersebut lalu dibilas dengan kapas yang dibasahi air bersih, sehingga tampak kulit punggung mencit tersebut. Mencit dibiarkan selama 48 jam. Sebelum di beri luka insisi, mencit diberi anastesi dahulu menggunakan injeksi intramuskular ketamin di bagian paha dan ditunggu hingga mencit tertidur. Kulit punggungnya kemudian dibasahi dengan etanol 70%, lalu dijepit dengan pinset, dan diberi sayatan melintang (dari sisi kiri/kanan punggung ke arah berlawanan) selebar 1 cm dengan *blade* steril. Bagian tengah luka segera dijahit menggunakan jarum jahit operasi dan benang jahit operasi. Gel *scarless wound* kemudian dioleskan sebanyak 0,1 mL pada luka sayatan dengan menggunakan spuit tanpa jarumnya. Pemberian sediaan dilakukan tiap 12 jam selama 48 jam. Setelah 48 jam, mencit dieutanasia dengan inhalasi kloroform teknis berlebih. Kulit punggung diambil dengan ukuran 2x2 cm dan disimpan dalam pot berisi formalin 10%.

2.8. Uji histopatologi – pengacatan Hematoxylin-Eosin (HE)

Uji histopatologi dilakukan oleh bagian Patologi Klinis Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada.

2.9. Analisis hasil

Pengukuran luas kolagen tiap preparat sampel dilakukan menggunakan instrumen perangkat lunak ImageJ. Hasil penghitungan luas kolagen akan dilaporkan secara semikuantitatif. Secara skematis metode penghitungan ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema dasar penghitungan luas kolagen

Pada Gambar 1 ditunjukkan: a) Garis IJ merupakan batas luar epidermis kulit mencit; b) Garis KL merupakan perbatasan antara lapisan epidermis dengan lapisan dermis kulit mencit; c) A dan E merupakan batas luka pada epidermis bagian dalam, pada penampang organ kulit mencit bagian kanan; d) D dan H merupakan batas luka pada epidermis bagian luar, pada penampang organ kulit mencit bagian kiri; e) Panjang masing-masing AB dan EF adalah 5 *pixel*; f) Ukuran panjang yang digunakan oleh instrumen Image-J adalah 62 ppi (*pixel* per inci); g) BC dan FG merupakan garis yang masing-masing tegak lurus terhadap AB dan EF; h) Sedangkan CDA dan GHE adalah garis yang terbentuk sesuai dengan bentuk penampang epidermis kulit; i) Dengan demikian, luas penampang epidermis yang dihitung adalah jumlah luas penampang epidermis ABCD dan EFGH.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi daun binahong

Hasil akhir dari rangkaian proses ekstraksi dan elektrolisis berupa ekstrak etanol binahong yang kental dan berwarna kekuning-kuningan.

3.2. Uji sterilitas

Hasil uji sterilisasi terhadap basis gel, basis binahong, basis ibuprofen, dan basis ibuprofen binahong adalah steril. Tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri atau adanya kontaminan pada cawan petri. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 2.

3.3. Uji sifat fisis

Pengujian sifat fisis yang dilakukan meliputi uji daya sebar, uji viskositas dan uji homogenitas. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan sediaan yang dibuat dalam penelitian ini untuk menyebar ketika diaplikasikan. Data hasil uji sifat fisis sediaan dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Hasil Uji Sifat Fisis

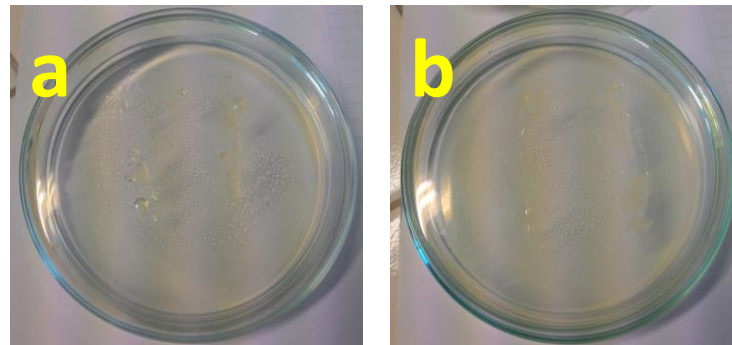
Sediaan	Daya sebar	Viskositas	Homogenitas
	Selisih (cm)	Selisih (Pa.s)	
Gel ibuprofen – gel	-0,741	0,352	Homogen
Gel binahong ibuprofen – gel	-0,641	1,222	Homogen

Uji viskositas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui nilai viskositas sediaan gel yang dibuat pada penelitian ini. Uji viskositas dilakukan menggunakan Rheosys Merlin II pada rpm 50. Gel ibuprofen memiliki viskositas yang lebih besar 0,352 Pa.s jika dibandingkan dengan sediaan gel serta memiliki daya sebar yang lebih kecil 0,741 cm jika dibandingkan dengan sediaan gel. Sedangkan gel binahong ibuprofen memiliki viskositas yang lebih besar 1,222 Pa.s jika dibandingkan dengan sediaan gel dan memiliki daya sebar yang lebih kecil 0,641 cm jika dibandingkan dengan sediaan gel. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa semua sediaan homogen.

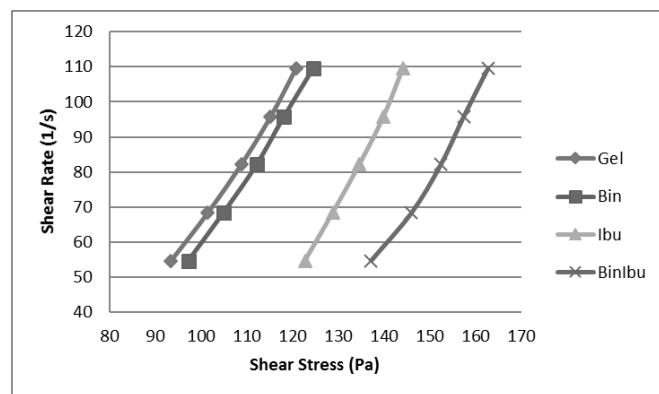
Dari grafik rheologi yang ditampilkan pada Gambar 3, dapat diketahui bahwa sediaan gel yang dibuat dalam penelitian ini memiliki sifat alir jenis pseudoplastis yang ditandai dengan bentuk grafik yang berbentuk agak melengkung naik ke atas.

3.4. Kriteria dan perlakuan terhadap mencit

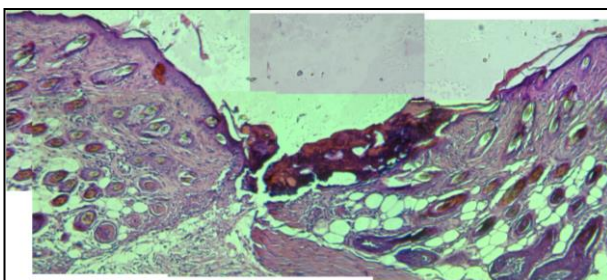
Gel yang telah dibuat dalam penelitian ini selanjutnya akan diuji aktivitasnya pada luka yang dibuat pada kulit punggung mencit. Mencit yang digunakan adalah mencit dengan galur Swiss Webster. Mencit yang digunakan adalah mencit dengan usia 2-3 bulan, karena pada usia tersebut, kulit mencit dalam kondisi yang cukup baik, aktivitas pembentukan kolagennya juga optimal. Digunakan mencit dengan bobot minimal 25 g dengan deviasi bobot sebesar 3 g karena pada bobot tersebut kulit mencit tidak terlalu tebal dan tidak juga terlalu tipis sehingga memudahkan dalam proses pengujian. Deviasi sebesar 3 g agar ketebalan kulit mencit satu dengan yang lainnya relatif sama, sehingga hal ini dapat meminimalisir



Gambar 2. Hasil uji sterilitas: Gel ibuprofen (a); dan Gel binahong ibuprofen (b)



Gambar 3. Grafik rheologi sediaan gel, gel binahong, gel ibuprofen, gel binahong ibuprofen



Gambar 4. Foto preparat hasil uji histopatologi: Gel ibuprofen (a); Gel binahong ibuprofen (b)

faktor pengacau yang dapat mengganggu hasil proses pengujian.

Sebelum dilukai, mencit diberi anestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin dengan dosis 40 mg/kg BB. Tujuan pemberian anestesi adalah agar mencit tidak merasakan rasa sakit seperti yang tertulis dalam *Ethical Clearance*. Setelah mencit tertidur, kulit punggung mencit kemudian dilukai dengan menggunakan blade dibuat luka berbentuk melintang selebar 1 cm. Kemudian dijahit sebanyak

1 jahitan menggunakan jarum dan benang operasi. Lalu dioleskan gel sebanyak 0,01 mL pada tempat yang telah dijahit. Seluruh alat yang digunakan, baik yang digunakan untuk melukai maupun yang digunakan untuk menjahit luka pada mencit bersifat steril. Tujuannya agar tidak terjadi proses infeksi yang dapat mengganggu proses penyembuhan luka.

Pemberian gel *scarless wound* ini dilakukan setiap 12 jam selama 48 jam. Setelah 2 hari, mencit di eutanasia menggunakan kloroform. Kulit

punggung mencit diambil dengan ukuran 2x2 cm dengan posisi luka berada di tengah-tengahnya. Kemudian kulit tersebut dilekatkan pada potongan kertas karton lalu disimpan dalam formalin 10%. Tujuan perekatan dengan kertas karton ini adalah untuk menghindari terjadinya mengerutan jaringan atau jaringan kulit tersebut menjadi tergulung akibat air yang terdapat dalam sel kulit tersebut tertarik keluar oleh larutan formalin 10% yang digunakan untuk menyimpannya. Larutan formalin 10% digunakan untuk menyimpan preparat jaringan kulit tersebut agar preparat kulit tersebut tidak membusuk ketika dalam proses menunggu proses pengecatan.

3.5. Analisis hasil

Parut luka terbentuk ketika terjadi pembentukan kolagen tidak beraturan sehingga akan menimbulkan bekas atau jaringan parut. Pada penelitian ini, penghitungan jumlah kolagen dilakukan terhadap foto preparat yang telah dilakukan pengecatan HE dan diamati dibawah mikroskop.

Tabel III. Pengurangan Hasil Pengukuran Rata-rata Luas Kolagen

	Pengurangan (mm ²)
Kontrol negatif - Gel ibuprofen	-0,0148
Kontrol negatif- Gel binahong ibuprofen	2,2330
Bioplacenton® - Gel ibuprofen	1,0944
Bioplacenton®- Gel binahong ibuprofen	3,3422

Penghitungan jumlah kolagen ini dilakukan dengan menggunakan program Image-J. Dimana dengan program ini, yang dihitung adalah luas kolagen yang terbentuk, dimulai dari tepi terluar luka yang terbentuk kekanan dan kekiri sejauh 5 pixel. Luasan yang terbentuk kemudian diukur dan diperoleh dalam ukuran pixel². Setelah itu dilakukan konversi nilai menjadi cm². Lalu dibandingkan antara luasan pada perlakuan satu dengan yang lainnya. Pengukuran dilakukan oleh tiga orang yang berbeda agar mendapatkan hasil yang valid.

Dari hasil uji histopatologi (Gambar 4) kemudian dilanjutkan dengan penghitungan jumlah luas kolagen yang terbentuk disekitar luka. Pembentukan *scar* didefinisikan sebagai pembentukan kolagen baru tidak beraturan yang terbentuk pada area epidermis dengan panjang 5

pixel ke kanan dan 5 pixel ke kiri yang dimulai dari perbatasan epidermis dengan sayatan luka.

Pada penelitian ini digunakan pembanding berupa Bioplacenton® karena memiliki mekanisme penyembuhan luka yang sama dengan yang dimiliki oleh binahong, yakni dengan mempercepat proses pembentukan kolagen. Tabel III menunjukkan data pengurangan hasil pengukuran rata-rata luas kolagen.

Luas kolagen yang terbentuk pada gel ibuprofen lebih besar jika dibandingkan dengan luas kolagen yang terbentuk pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa gel ibuprofen tidak mampu menunjukkan aktivitas pengurangan jumlah kolagen.

Lain halnya dengan luas kolagen yang terbentuk pada gel binahong ibuprofen. Rata-rata luas kolagen yang terbentuk oleh gel binahong ibuprofen lebih kecil 2,2330 mm² jika dibandingkan dengan rata-rata luas kolagen yang terbentuk pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan zat aktif antiinflamasi ibuprofen pada sediaan gel binahong efektif berkhasiat menurunkan atau menekan proses pembentukan kolagen pada tahap inflamasi. Ini sejalan dengan teori yang disampaikan oleh Wilgus dkk. (2003) bahwa penambahan zat antiinflamasi dalam sediaan *scarless wound* dapat menekan aktivitas inflamasi dalam tahap awal proses penyembuhan luka, yang menyebabkan penurunan yang signifikan dalam proses pembentukan parut luka.

Pengurangan luas kolagen yang terbentuk antara gel ibuprofen dengan Bioplacenton® lebih kecil jika dibandingkan dengan pengurangan luas kolagen yang terbentuk antara gel binahong ibuprofen dengan Bioplacenton®. Hal ini menunjukkan bahwa baik gel ibuprofen maupun gel binahong ibuprofen memiliki kemampuan menekan pembentukan kolagen lebih baik dibandingkan dengan Bioplacenton®.

Gel binahong ibuprofen menghasilkan data yang berbeda secara statistik jika dibandingkan dengan luas kolagen yang terbentuk pada kontrol negatif dan Bioplacenton®. Sama halnya dengan gel ibuprofen yang menghasilkan data yang berbeda secara statistik jika dibandingkan dengan Bioplacenton®. Hal ini dibuktikan dengan nilai $p < 0,05$. Sedangkan luas kolagen yang terbentuk pada gel ibuprofen menghasilkan data yang tidak

berbeda secara statistik jika dibandingkan dengan luas kolagen yang terbentuk pada kontrol negatif. Hal ini dibuktikan dengan nilai $p > 0,05$.

4. Kesimpulan

Kombinasi ekstrak binahong dan zat antiinflamasi ibuprofen pada sediaan gel *scarless wound* dapat memberikan efek pengurangan parut luka yang terjadi pada proses penyembuhan luka.

Daftar Pustaka

- Ariani, S., Loho, L., dan Durry, M.F., 2013. Khasiat Daun Binahong (*Andrederacordifolia* (TEN) *steenisi*) Terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi dan Reepitelisasi Penyembuhan Luka Terbuka Kulit Kelinci. *Jurnal e-Biomedik*, 1(2), 914-919.
- Aslam, Nousheen, dan Bushra, Rabia, 2010. An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. *Oman Medical Journal*, 155-158.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1995. *Farmakope Indonesia*, jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 712.
- Eming, S.A., Krieg, T., dan Davidson, J.M., 2007. Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, 514-525.
- Erizal, S.P., Dewi, dan Sudrajat, A., 2009. Sintesis Hidrogel Polietilen Oksida Berikatan Silang dan Imobilisasi Antibiotik dengan Cara Induksi Radiasi Gamma untuk Aplikasi Pembalut Luka. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 5(2), 177-193.
- Field, C.K., dan Kerstein, M.D., 1994. Overview of Wound Healing in a Moist Environment. *The American Journal of Surgery*, 167(1A), 2-6.
- Lieberman., Rieger, dan Banker, 1989. *Pharmaceutical Dosage Form: Disperse System*. New York: Marcel Dekker Inc., pp. 495-498.
- Manoi, F., 2009. Binahong (*Andredera cordifolia*) sebagai obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 15(1), 3-5.
- Reksoprodjo, S., 2012. *Kumpulan Kuliah Ilmu Bedah*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 387.
- Shai, A., dan Maibach, H., I., 2005. *Wound Healing and Ulcers of The Skin*. Springer, Berlin: Jerman, pp. 7-12.
- Shaw, J., dan Martin, Paul, 2009. *Wound Repair at a Glance*, UK: The Company of Biologist, pp. 3209-3213.
- Starr, F., Starr, K., dan Loope, L., 2003. *Andredera cordifolia* Madeira vine. *United States Geological Survey-Biological Resources Division Haleakala Field Station*, 1-6.
- Sumartiningsih, S., 2011. The Effect of Binahong to Hematoma. *World Academy of Science*, 78, 743-745.
- Susetya, D., 2012. *Khasiat & Manfaat Daun Ajaib Binahong Cetakan 1*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press, p. 25.
- Umar, A., Krihariyani, D., dan Mutiarawati, D., T., 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Andrederacordifolia* (TEN) *steenisi*) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit. *Analisis Kesehatan Sains*, 01(02), 68-75.
- Wilgus, Traci A., Vodovotz, Y., Vittadini, E., Clubbs, E., A., dan Oberyzyzn, T., M., 2003. Reduction of Scar Formation in Full-thickness Wounds with Topical Celecoxib Treatment. *Wound Rep Reg*, 11, 25-34.
- Yuliani, S.H., 2012. Ekstrak Etanol Daun Binahong, *Disertasi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.